



## ATIVIDADE INIBITÓRIA *IN VITRO* DE $\alpha$ -AMILASE E $\alpha$ -GLUCOSIDASE DE EXTRATOS DO CAQUI

Virgínia Mirtes de Alcântara Silva<sup>1</sup>  
Newton Carlos Santos<sup>2</sup>  
Raphael Lucas Jacinto Almeida<sup>3</sup>  
Victor Herbert de Alcântara Ribeiro<sup>4</sup>

### Promoção de saúde

### *Resumo*

O caqui é uma fruta amplamente consumida em várias partes do mundo, conhecida por seu sabor doce, propriedades nutricionais e bioativas. No entanto, compostos bioativos têm sido associados a uma variedade de benefícios para a saúde, incluindo atividade antioxidante, anti-inflamatória e hipoglicemiante. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade inibitória  $\alpha$ -amilase e da  $\alpha$ -glucosidase em extratos das diferentes frações do caqui. Para isso, foram elaborados extratos com polpa e resíduos (casca e sementes) de caqui com solução hidroalcoólica (42,16 % etanol), para sua redução em pó os extratos foram liofilizados (-50 °C). Os resultados revelaram que os extratos elaborados apresentaram atividade inibitória sobre as enzimas, sendo observado que os extratos elaborados com os resíduos de caqui apresentaram valores significativamente maiores em comparação aos extratos da polpa. Essas descobertas ressaltam a importância de explorar alternativas naturais, como os extratos de polpas de frutas, que podem fornecer compostos bioativos capazes de inibir essas enzimas e contribuir para o controle da hiperglicemia pós-prandial.

**Palavras-chave:** anti-hiperglicêmico, resíduos de caqui, liofilização, processamento vegetal.

---

<sup>1</sup>Bióloga e Dra. em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais – PPGEGRN, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, virginia.mirtes2015@gmail.com

<sup>2</sup>Doutorando em Engenharia Química – PPGEQ, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, newtonquimicoindustrial@gmail.com

<sup>3</sup>Doutorando em Engenharia Química – PPGEQ, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, raphaelqindustrial@gmail.com

<sup>4</sup>Doutorando em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais – PPGEGRN, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, victor\_herbert@hotmail.com



## INTRODUÇÃO

A prevalência global de doenças metabólicas, como a diabetes mellitus tipo 2, tem aumentado significativamente nos últimos anos. O controle efetivo da glicemia é essencial para o manejo adequado dessas condições, a fim de prevenir complicações crônicas relacionadas à hiperglicemia. Atualmente, há um crescente interesse em abordagens terapêuticas baseadas em produtos naturais, especialmente extratos de plantas, devido à sua potencial eficácia e menor incidência de efeitos colaterais (JABER et al., 2023).

A  $\alpha$ -amilase e a  $\alpha$ -glucosidase são enzimas-chave envolvidas na digestão e absorção de carboidratos, e sua inibição pode reduzir a taxa de absorção de glicose no intestino delgado. Isso leva a um controle mais adequado dos níveis de glicose no sangue após as refeições, evitando picos hiperglicêmicos (ULLAH et al., 2023). Portanto, a busca por compostos inibidores dessas enzimas tem se intensificado, visando o desenvolvimento de agentes anti-hiperglicêmicos mais seguros e eficazes.

As frutas têm sido amplamente estudadas devido à sua rica composição de compostos bioativos, como polifenóis, flavonoides e outros fitoquímicos. Essas substâncias têm demonstrado propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e hipoglicemiantes, sugerindo um potencial efeito benéfico no controle da glicemia. Nesse contexto, extratos de partes de frutas têm sido explorados como fontes promissoras de compostos bioativos com atividade inibitória sobre as enzimas alfa-amilase e alfa-glucosidase (SALAHUDDIN et al., 2020).

O caqui (*Diospyros kaki* L.) é uma fruta que pertence à família Ebenaceae e é uma cultura tradicional asiática, cultivada principalmente na China, Japão e Coréia. Na América Latina, o Brasil é um grande produtor. Os frutos maduros apresentam coloração amarela a marrom-avermelhada, dependendo da cultivar. Suas polpas são gelatinosas e de sabor doce, mas podem ser adstringentes mesmo na época da colheita, como as variedades Fuji e Rojo Brillante. Já outras não são adstringentes devido ao seu reduzido teor de polifenóis, catequinas e taninos, como as cultivares Fuyu, Hana-Fuyu e Kyoto (PILTZ et al., 2022). O consumo de caqui tem experimentado um aumento importante, uma vez que esta fruta demonstrou ser uma fonte de componentes bioativos, como vitamina C, pectina, taninos

Realização





condensados e carotenóides que estão relacionados a vários impactos positivos à saúde, incluindo efeitos anti-hipercolesterolêmicos, cardioprotetores, anticarcinogênicos, anti-inflamatórios e antioxidantes (MUÑOZ-ALMAGRO et al., 2021).

No entanto, apesar do crescente interesse nessa área, há uma lacuna significativa de estudos abordando a atividade inibitória dessas enzimas em extratos de partes de frutas específicas. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade inibitória  $\alpha$ -amilase e da  $\alpha$ -glucosidase em extratos das diferentes frações do caqui, buscando identificar possíveis fontes naturais de agentes anti-hiperglicêmicos. A compreensão do potencial desses extratos de frutas pode contribuir para o desenvolvimento de terapias alternativas e complementares para o controle da glicemia e prevenção de complicações associadas a doenças metabólicas.

## METODOLOGIA

### Preparo das amostras

Foram utilizados caqui (*Diospyros kaki* L.) (Figura 1) adquiridos no comércio local. A seleção foi realizada com base na ausência de defeitos visuais ou rachaduras. Inicialmente, os frutos foram lavados em água corrente e sanitizados em uma solução de hipoclorito de sódio (200ppm/5 min). Após limpeza e sanitização, os frutos foram divididos em resíduo (casca e sementes) e polpa. Para obtenção dos extratos, o resíduo e a polpa de caqui foram submetidos ao congelamento lento em freezer por 48 h em temperatura de -18°C. Após o congelamento, as amostras foram transferidas para o liofilizador de bancada (Terroni, LS 3000) e submetida a uma temperatura de -50°C por 48 h. Após a secagem, as frações obtidas foram trituradas em liquidificador industrial e tiveram sua granulometria padronizada em malha 30 (600  $\mu$ m) por meio de peneiras

#### Realização



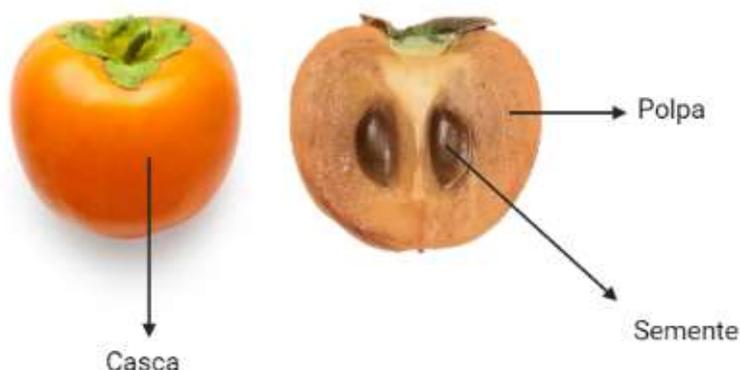


Figura 1. Fruto do caquizeiro com identificações de suas frações

Fonte: Própria (2023).

### Obtenção dos extratos

Para obtenção dos extratos foi utilizada a metodologia proposta por Lima et al. (2022). Para isso, uma mistura de 1:10 (amostra liofilizada: solução extratora) foi preparada com solução hidroalcoólica (42,16 % etanol) e levada a um banho ultrassônico (frequência de 40 kHz e potência de 100 W por 37 min a  $30 \pm 1$  °C). Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 4500 rpm por 10 min em temperatura ambiente e filtrada (papel de filtro). O sobrenadante foi coletado e concentrado em rotaevaporador a uma temperatura de 40 °C durante 2 h, obtendo-se um extrato com 9,0% de sólidos na amostra.

O extrato de cada fração foi incorporado com 11 % (p/p) de maltodextrina de forma que sua mistura atingisse 20% de sólidos. Em seguida, as formulações das diferentes frações de caqui foram submetidas ao congelamento lento em freezer por 48 h em temperatura de -18°C. Após o congelamento, as amostras foram transferidas para o liofilizador de bancada (Terroni, LS 3000) e submetida a uma temperatura de -50°C por 48 h. Após a secagem, a granulometria das amostras foi padronizada em malha 30 (600 µm) por meio de peneiras e foram colocadas em embalagem metalizada a vácuo para protegê-las da luz e do oxigênio até a análise.

Realização



### Atividades inibitórias de $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glucosidase

A atividade inibitória da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase foi avaliada de acordo com os procedimentos descritos por Leporini et al. (2020) e Sicari et al. (2023). No ensaio de inibição da  $\alpha$ -amilase, as amostras foram dissolvidas em etanol em concentrações variando de 25 a 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Em seguida, foram adicionadas à solução de amido contendo tampão fosfato de sódio 20 mM e cloreto de sódio 6.7 mM. A mistura foi deixada reagir com a solução enzimática contendo 0.0253 g de enzima em 100 mL de água fria, a uma temperatura ambiente de 25 °C por 5 min. A absorbância da reação foi medida a 540 nm.

No teste da atividade inibitória da  $\alpha$ -glucosidase, uma solução de maltose em tampão acetato de sódio 50 mM foi combinada com a solução enzimática contendo 1 mg de enzima em 10 mL de água destilada gelada. Além disso, foi adicionada uma solução de o-dianisidina (1 comprimido em 25 mL de água destilada) e um reagente de cor contendo sistema peroxidase/glicose oxidase. Em seguida, as amostras nas concentrações variando de 25 a 1000  $\mu\text{g/mL}$  foram adicionadas à mistura e deixadas reagir por 30 minutos a 37 °C. A absorbância da reação foi medida a 500 nm. Em ambos os testes, a acarbose foi utilizada como controle positivo e os resultados foram expressos em IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ ).

### Análise estatística

Os dados experimentais analisados em triplicata ( $n = 3$ ) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ), utilizando o software estatístico SPSS versão 20 (SPSS Inc.).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hidrólise de carboidratos em dextrina pela atividade da  $\alpha$ -amilase pancreática, que por sua vez é hidrolisada posteriormente em glicose pela enzima  $\alpha$ -glucosidase intestinal, causa hiperglicemia pós-prandial. Uma estratégia importante no manejo do diabetes tipo dois é inibir essas enzimas (MAHOMOODALLY e MUTHOORA, 2014). A Tabela 1 apresenta a atividade inibitória da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase nos extratos liofilizados elaborados com polpa e resíduos de caqui. Os valores obtidos representam a inibição das

Realização



enzimas, indicando a capacidade dos extratos em reduzir a atividade das mesmas.

Tabela 1. Atividade inibitória da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase dos extratos elaborados com polpa e resíduos de caqui.

Extratos	$\alpha$ -amilase IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ ).	$\alpha$ -glucosidase IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ ).
Polpa	1,63 $\pm$ 0,40 <sup>b</sup>	4,57 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>
Resíduos	2,19 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	6,84 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>

Nota: Letras minúsculas iguais não diferiram significativamente entre os extratos estudados ( $p > 0,05$ ).

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que os valores de inibição da  $\alpha$ -amilase foram inferiores aos da inibição da  $\alpha$ -glucosidase, com variações de IC50 de 1,63 a 2,19  $\mu\text{g/mL}$  e de 4,57 a 6,84  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Além disso, os extratos dos resíduos apresentaram valores significativamente maiores em comparação aos extratos elaborados com polpa de caqui. Em contraste, estudos anteriores relataram valores inferiores de IC50 para extratos de folhas de abóbora africana, indicando um potencial atividade inibitória desses compostos bioativos (MASHIANE et al., 2021)

As enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase desempenham um papel fundamental na quebra dos carboidratos presentes nos alimentos em glicose, que é posteriormente absorvida pelo organismo. No entanto, uma atividade excessiva dessas enzimas pode levar a uma rápida e elevada absorção de glicose, resultando em picos hiperglicêmicos após as refeições, conforme relatado por Silva et al. (2018).

Os extratos vegetais, ricos em compostos bioativos, têm demonstrado potencial para inibir a atividade dessas enzimas digestivas de carboidratos. Mecanismos propostos incluem a ligação direta dos compostos aos sítios ativos das enzimas, impedindo sua ação catalítica, bem como interferências nos processos de absorção e transporte de substratos pelas células intestinais, conforme mencionado por Borges et al. (2022) e Lu et al. (2021).

É importante destacar que os efeitos inibitórios dos polifenóis nas enzimas  $\alpha$ -

Realização



glucosidase e  $\alpha$ -amilase estão relacionados às suas características estruturais, como a presença de hidroxilas e ligações duplas nos anéis aromáticos. Esses compostos bioativos presentes nos extratos de polpas de frutas podem oferecer uma alternativa natural para o controle da hiperglicemia pós-prandial (Mashiane et al., 2021).

Portanto, os resultados deste estudo fornecem informações promissoras para a utilização de extratos vegetais como uma estratégia potencial no controle da hiperglicemia pós-prandial. No entanto, mais pesquisas são necessárias para elucidar os compostos específicos responsáveis pela atividade de inibição das enzimas e entender melhor seus mecanismos de ação.

## CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados deste estudo destacam o potencial dos extratos da polpa e dos resíduos de caqui como fontes naturais de compostos bioativos com atividade inibitória das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase. Observou-se uma variabilidade na atividade inibitória entre os diferentes extratos, sendo os extratos dos resíduos de caqui os mais promissores. Essas descobertas sugerem que o uso de extratos vegetais pode ser uma abordagem eficaz no controle da hiperglicemia pós-prandial. No entanto, são necessárias mais pesquisas para identificar e caracterizar os compostos bioativos responsáveis por essa atividade inibitória e compreender seus mecanismos de ação. Esses estudos podem fornecer subsídios importantes para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas complementares no manejo da glicemia.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pesquisa fornecida durante a realização deste estudo.

Realização





## REFERÊNCIAS

BORGES, L. L. R., DE OLIVEIRA, L. L., FREITAS, V. V., JÚNIOR, B. R. D. C. L., NASCIMENTO, A. L. A. A., CASTRO, G. A. D., ... & STRINGHETA, P. C. Digestive enzymes inhibition, antioxidant and antiglycation activities of phenolic compounds from jabuticaba (*Plinia cauliflora*) peel. **Food Bioscience**, v. 50, p. 102195, 2022.

JABER, S. A. In vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and in vivo antidiabetic activity of *Quercus coccifera* (Oak tree) leaves extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 7, p. 103688, 2023.

LEPORINI, M., LOIZZO, M. R., SICARI, V., PELLICANÒ, T. M., REITANO, A., DUGAY, A., ... & TUNDIS, R. Citrus× clementina hort. juice enriched with its by-products (Peels and Leaves): Chemical composition, in vitro bioactivity, and impact of processing. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p.298, 2020.

LIMA, A. C. S., ALVES FILHO, E. G., SAMPAIO, L. M. F., PONTES, C. M., AFONSO, M. R. A., RIBEIRO, P. R. V., ... & DE SIQUEIRA OLIVEIRA, L. Evaluation of freeze-dried phenolic extract from cashew apple by-product: Physical properties, in vitro gastric digestion and chemometric analysis of the powders. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 5, p. 100149, 2022.

LU, S. Y., CHU, Y. L., SRIDHAR, K., & TSAI, P. J. Effect of ultrasound, high-pressure processing, and enzymatic hydrolysis on carbohydrate hydrolyzing enzymes and antioxidant activity of lemon (*Citrus limon*) flavedo. **LWT**, v. 138, p. 110511, 2021.

MAHOMOODALLY, M. F., MUTHOORA, D. D. Kinetic of inhibition of carbohydrate-hydrolysing enzymes, antioxidant activity and polyphenolic content of *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn.(Phyllanthaceae). **Journal of Herbal Medicine**, v. 4, n. 4, p. 208-223, 2014.

MASHIANE, P., MANHIVI, V. E., SHOKO, T., SLABBERT, R. M., SULTANBAWA, Y., & SIVAKUMAR, D. Cooking African pumpkin leaves (*Momordica balsamina* L.) by stir-frying improved bioactivity and bioaccessibility of metabolites—Metabolomic and chemometric approaches. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2890, 2021.

MUÑOZ-ALMAGRO, N., VENDRELL-CALATAYUD, M., MÉNDEZ-ALBIÑANA, P., MORENO, R., CANO, M. P., & VILLAMIEL, M. Extraction optimization and structural characterization of pectin from persimmon fruit (*Diospyros kaki* Thunb. var. Rojo brillante). **Carbohydrate Polymers**, v. 272, p. 118411, 2021.

PILTZ, M. T., LOPES, A. B. U., GIBBERT, L., & KRÜGER, C. C. H. Extraction of pectin from persimmon (*Diospyros kaki* L.). **Applied Food Research**, v. 2, n. 2, p. 100224, 2022.

SALAHUDDIN, M. A. H., ISMAIL, A., KASSIM, N. K., HAMID, M., & ALI, M. S. M. Phenolic profiling and evaluation of in vitro antioxidant,  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of *Lepisanthes fruticosa* (Roxb) Leenh fruit extracts. **Food chemistry**, v. 331, p. 127240, 2020.

Realização





SICARI, V., ROMEO, R., MINCIONE, A., SANTACATERINA, S., TUNDIS, R., & LOIZZO, M. R. Ciabatta Bread Incorporating Goji (*Lycium barbarum* L.): A New Potential Functional Product with Impact on Human Health. **Foods**, v. 12, n. 3, p. 566, 2023.

SILVA, C. P., SAMPAIO, G. R., FREITAS, R. A. M. S., & TORRES, E. A. F. D. S. Polyphenols from guaraná after in vitro digestion: Evaluation of bioaccessibility and inhibition of activity of carbohydrate-hydrolyzing enzymes. **Food Chemistry**, v. 267, p. 405-409, 2018.

ULLAH, H., ASLAM, M. W., RAHIM, F., HUSSAIN, A., & PERVIAZ, M. Synthesis, in vitro  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase activities and molecular docking study of oxadiazole-sulphonamide hybrid analogues. **Chemical Data Collections**, v. 45, p. 101031, 2023.

Realização

